

局所脳虚血における神経栄養因子及び受容体mRNAの 発現，誘導について - ラット中大脳動脈閉塞モデル におけるin situ hybridization による検討 -

著者	荒井 祥一
号	3022
発行年	1998
URL	http://hdl.handle.net/10097/21678

氏 名（本籍） あら い しょう いち
荒 井 祥 一

学 位 の 種 類 博 士 （ 医 学 ）

学 位 記 番 号 医 第 3 0 2 2 号

学位授与年月日 平 成 10 年 3 月 4 日

学位授与の条件 学位規則第4条第2項該当

最 終 学 歴 昭 和 63 年 3 月 23 日
弘 前 大 学 医 学 部 卒 業

学 位 論 文 題 目 局所脳虚血における神経栄養因子及び受容体
mRNA の発現, 誘導について
—ラット中大脳動脈閉塞モデルにおける *in situ*
hybridization による検討—

（主 査）

論 文 審 査 委 員 教授 吉 本 高 志 教授 糸 山 泰 人

教授 北 本 哲 之

論文内容要旨

【目 的】

局所脳虚血は、虚血中心部の急性壊死に加え、虚血周辺部や遠隔部において transneuronal な興奮性細胞障害をもたらす。本研究では、局所脳虚血において、以下の3点の検討を目的とする。

- 1) 神経栄養因子と受容体遺伝子の発現および誘導を topographical に検討する。
- 2) 神経栄養因子の誘導と、神経興奮の指標である immediate early gene の c-fos 遺伝子および細胞障害の指標である hsp70 遺伝子の誘導とを比較検討する。
- 3) c-fos および Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) の誘導機序解明のため、 α -amino-3-hydroxy-5-methylisoxazolepropionate (AMPA) 受容体拮抗剤の NBQX と、N-Methyl-D-aspartate (NMDA) 受容体拮抗剤の MK-801 を前投与し、両薬剤の c-fos および BDNF mRNA の誘導に対する効果を検討する。

【方 法】

- 1) 神経栄養因子及び受容体の発現、誘導の検討

経内頸動脈的ナイロン糸挿入による、ラット近位中大脳動脈閉塞モデルを作成し、閉塞後4, 8, 24時間における神経栄養因子の Nerve growth factor (NGF), BDNF および Neurotrophin-3 (NT-3) mRNA と、受容体遺伝子である *trk A*, *trk B* および *trk C* mRNA について、*in situ* hybridization を施行した。

- 2) c-fos, hsp70 mRNA の発現、誘導

同じ中大脳動脈閉塞モデルにおいて c-fos および hsp70 mRNA について、閉塞後4時間において検討した。

- 3) NBQX と MK-801 の c-fos, BDNF mRNA の誘導に対する効果

興奮性アミノ酸であるグルタミン酸受容体のうち、AMPA 受容体拮抗剤の NBQX (90mg/kg) と NMDA 受容体拮抗剤の MK-801 (4mg/kg) を中大脳動脈閉塞30分前に腹腔内投与し、両薬剤の c-fos および BDNF mRNA の誘導に及ぼす効果について、閉塞4時間にて検討した。

【結 果】

- 1) NGF は中大脳動脈閉塞4時間で、虚血側の帯状回と両側の海馬歯状回に誘導を認めた。大脳皮質における NGF の誘導は24時間までに虚血領域周辺の大脳皮質に広範に誘導されたが、海馬では、4時間以降減弱した。NGF の受容体遺伝子である *trk A* mRNA は、前脳基底野の

コリン作動性ニューロンに発現がみられたが、中大脳動脈閉塞による誘導は認めなかった。BDNF と、その受容体遺伝子である *trk B* mRNA は、虚血中心部を除く大脳皮質の広範な部位と、両側の海馬に閉塞 4－8 時間に一過性に誘導が認められた。NT-3 と、その受容体遺伝子である *trk C* mRNA は、閉塞 4 時間で両側歯状回で一過性に減弱した。

2) *c-fos* は BDNF の誘導を認めた部位に加え、虚血側線条体、視床および黒質に誘導を認めた。BDNF と NGF の誘導を認めなかった大脳皮質の penumbra 領域、虚血側の視床、黒質では *hsp70* mRNA の著しい誘導を認めたが、BDNF と NGF の誘導を認めた帯状回と retrosplenial cortex、両側海馬では *hsp70* の誘導は認めなかった。

3) MK-801 投与群において、BDNF mRNA は大脳皮質および海馬で誘導が抑制されたが、*c-fos* mRNA はさらに視床でも抑制された。黒質における *c-fos* の誘導は、MK-801 にても抑制されなかった。NBQX の両遺伝子に対する抑制効果は認めなかった。

以上の結果より、

1) 局所脳虚血における神経栄養因子の誘導は、虚血中心部では認められず、spreading depression あるいは transsynaptic neurotransmission により神経興奮を生ずる虚血領域以外の大脳皮質や、遠隔部（両側海馬）に生ずることが明らかとなった。特に BDNF の誘導は NMDA 受容体を介する神経興奮によるものであることが判明した。

2) 各神経栄養因子の誘導部位および時間経過は、それぞれにおいて異なっており、複雑な発現機序あるいは制御機構が存在すると考えられた。

3) 局所脳虚血において *c-fos* の誘導を認めた遠隔部位のうち、神経栄養因子の誘導を認めた海馬では、*hsp70* の誘導は認められず、神経栄養因子の誘導を認めなかった視床、黒質では *hsp70* mRNA の誘導を認めた。この視床および黒質は、慢性期において遅発性神経障害を呈する部位であり、この観点からも、虚血早期の神経栄養因子の誘導が、局所脳虚血における興奮性細胞障害に対する保護効果を有する可能性が示唆された。

審 査 結 果 の 要 旨

本論文では、種々の神経興奮により、脳で内在的に合成される神経栄養因子の遺伝子発現が増強されるという点に着目し、ラット近位中大脳動脈永久閉塞モデルでの局所脳虚血における種々の神経栄養因子と受容体の mRNA の誘導について検討を行った。

その結果、脳に多量に存在する BDNF が、immediate early gene の *c-fos* 同様、虚血周辺部の大脳皮質と海馬において、早期に広範な誘導を示すことを明らかにした。とくに、その受容体遺伝子である *trk B* が、BDNF と同様の部位に誘導され、しかも BDNF の誘導に追従して認められた事実は、これまで報告はなく、リガンドとなる BDNF が、*trk B* の誘導を up-regulate する可能性を示唆するもので興味深い。また、中大脳動脈閉塞による BDNF の誘導機序についての報告もこれまでなされていない。

本論文にて虚血周辺部、遠隔部での BDNF の誘導が、*c-fos* の誘導と同様に、NMDA 受容体拮抗剤の MK-801 にて抑制されたことは初めての報告であり、ひいては MK-801 が局所脳虚血における興奮性細胞障害の治療薬のひとつに成り得る可能性を示唆するものである。

このように、種々の神経栄養因子と受容体遺伝子の、発現、誘導動態、誘導機序を同時に解析し、明らかにした業績は顕著であり、本論文では、さらに、神経細胞保護作用を有した神経栄養因子が、種々の細胞障害を呈する局所脳虚血において、どのように関わってくるのかといった点に着目し、細胞傷害の指標である HSP70 遺伝子と比較検討した点も有意である。

その結果、神経栄養因子の発現する部位では、細胞傷害が回避されていることを示した。これからの虚血性神経障害と神経栄養因子との関連についての研究に多大なる情報を提供するものと思われる。

以上、本論文のオリジナリティー及び論文の完成度に鑑み、学位論文に値するものと考える。